

Е. А. Бесхмельницына, М. В. Покровский, А. А. Должиков, Т. В. Автина, Н. И. Жернакова, А. А. Пересыпкина.
Исследование анальгетической и противовоспалительной активности нового неопиоидного анальгетика...

<https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-1-77-87>

ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО НЕОПИОИДНОГО АНАЛЬГЕТИКА НА ОСНОВЕ СЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА ИОННЫХ КАНАЛОВ TRPA1

Е. А. Бесхмельницына*, М. В. Покровский, А. А. Должиков, Т. В. Автина,
Н. И. Жернакова, А. А. Пересыпкина

*Медицинский институт Федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего профессионального образования
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия*

Аннотация

Цель. Изучить анальгетическую и противовоспалительную активность инновационной молекулы под лабораторным шифром ZC02-0012 из группы селективных блокаторов ионного канала TRPA1.

Материалы и методы. Исследование анальгетической активности ZC02-0012 проводили в тестах: горячей пластины и уксуснокислых корчей. Тест горячей пластины выполнен на белых лабораторных мышах. Субстанцию ZC02-0012 вводили в дозах 1, 3 и 9 мг/кг. В качестве препарата сравнения был выбран «Кеторол» в дозе 3,48 мг/кг. Для изучения анальгетических эффектов в тесте горячей пластины intactных белых лабораторных мышей помещали на разогретую до 55° пластину с целью определения базового уровня болевой чувствительности. Затем разделенным на группы животным вводили исследуемые вещества и повторяли тест горячей пластины через 30, 60, 90 и 120 минут. Для изучения анальгетических эффектов в тесте уксуснокислых корчей белым лабораторным крысам вводили субстанцию ZC02-0012 в дозах 0,46, 1,38 и 4,15 мг/кг. В качестве препарата сравнения был выбран «Кеторол» в дозе 1,6 мг/кг. Спустя 30 минут после внутримышечного введения и спустя 60 минут после внутрижелудочного введения осуществляли внутрибрюшинное введение 0,75% раствора уксусной кислоты из расчета 1 мл на 100 г массы животного. Подсчет количества корчей начинали спустя 15 минут от момента введения уксусной кислоты и продолжали в течение 30 минут. Противовоспалительные эффекты субстанции ZC02-0012 были изучены на модели острого экссудативного воспаления в ответ на субплантарное введение в правую заднюю лапку мыши 0,02 мл 2% водного раствора формальдегида. Через 4 часа после введения флогистика оценивали массу отека лапки. Субстанцию ZC02-0012 в дозах 1, 3 и 9 мг/кг и препарат сравнения Диклофенак в дозе 13,91 мг/кг вводили внутрижелудочно либо внутримышечно за 45 минут до введения флогистика. О наличии и выраженности противовоспалительной активности судили по ингибирующему эффекту, выраженному в процентах.

Результаты. Установлено, что анальгетическая активность ZC02-0012 превышает таковую для кеторола как при внутримышечном, так и при внутрижелудочном пути введения по результатам тестов горячей пластины в дозах 3 и 9 мг/кг и уксуснокислых корчей в дозах 1,38 и 4,15 мг/кг, а противовоспалительная активность ZC02-0012 в дозах 3 и 9 мг/кг сопоставима с таковой для препарата «Диклофенак».

Заключение. Инновационная молекула под лабораторным шифром ZC02-0012 имеет выраженную анальгетическую и противовоспалительную активность и таким образом представляет интерес для проведения ее дальнейших исследований.

Ключевые слова: ионный канал TRPA1, ZC02-0012, боль, воспаление, «Кеторол», «Диклофенак», НПВС

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Бесхмельницына Е.А., Покровский М.В., Должиков А.А., Автина Т.В., Жернакова Н.И., Пересыпкина А.А. Исследование анальгетической и противовоспалительной активности нового неопиоидного анальгетика на основе селективного ингибитора ионных каналов TRPA1. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2019; 26(1): 77–87. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-1-77-87>

Поступила 20.10.2018

Принята после доработки 11.01.2019

Опубликована 25.02.2019

STUDY OF THE ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF A NEW NON-OPIOID ANALGESIC BASED ON A SELECTIVE INHIBITOR OF TRPA1 ION CHANNELS

Evgeniya A. Beskhmel'nitsyna*, Mikhail V. Pokrovskii, Aleksandr A. Dolzhikov, Tat'yana V. Avtina, Nina I. Zhernakova, Anna A. Peresyapkina

*Medical Institute, Belgorod State National Research University,
Pobedy str., 85, Belgorod, 308015, Russia*

Abstract

The aim is to study the analgesic and anti-inflammatory activity of an innovative molecule under the ZC02-0012 laboratory code belonging to the group of selective blockers of the TRPA1 ion channel.

Materials and methods. The study of the ZC02-0012 analgesic activity was carried out by the hot plate and acetic acid writhing tests. The hot plate test was performed on white laboratory mice. ZC02-0012 substance was administered in doses of 1, 3 and 9 mg/kg. Ketorol at a dose of 3.48 mg/kg was chosen as the reference drug. To study the analgesic effects in the hot plate test, intact white laboratory mice were placed on a preheated at 55°C plate to determine the base level of pain sensitivity. Then the test substances were administered to the animals divided into groups, and the hot plate test was repeated after 30, 60, 90 and 120 minutes. To study the analgesic effects in the test of acetic acid writhing, white laboratory rats were injected with the ZC02-0012 substance at doses of 0.46, 1.38, and 4.15 mg/kg. Ketorol at a dose of 1.6 mg/kg was chosen as the reference drug. 30 minutes after intramuscular injection and 60 minutes after intragastric administration, the intraperitoneal administration of a 0.75% solution of acetic acid was carried out at the rate of 1 ml per 100 g of animal weight. Counting the number of writhings started 15 minutes after the injection of acetic acid and continued for 30 minutes. The anti-inflammatory effects of the ZC02-0012 substance were studied using a model of acute exudative inflammation in response to the subplantar introduction of 0.02 ml of 2% formaldehyde aqueous solution into the right hind paw of the mouse. 4 hours after the phlogistic introduction, the mass of the edematous paw was evaluated. ZC02-0012 substance at doses of 1, 3 and 9 mg/kg and the Diclofenac reference drug at a dose of 13.91 mg/kg were administered intragastrically or intramuscularly 45 minutes before the introduction of phlogistic. The presence and severity of anti-inflammatory activity was judged by the inhibitory effect, expressed in percentage.

Results. The analgesic activity of ZC02-0012 is found to exceed that for Ketorol in both the intramuscular and intragastric ways of administration according to the results of hot plate tests in doses of 3 and 9 mg/kg and acetic acid writhing in doses of 1.38 and 4.15 mg/kg, while the

anti-inflammatory activity of ZC02-0012 at doses of 3 and 9 mg/kg is shown to be comparable to that of Diclofenac.

Conclusion. The innovative molecule under the ZC02-0012 laboratory code is established to exhibit a pronounced analgesic and anti-inflammatory activity, thus being prospective for further research.

Keywords: TRPA1 ion channel, ZC02-0012, pain, inflammation, Ketorol, Diclofenac, NSAIDs

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Beskhmel'nitsyna E.A., Pokrovskii M.V., Dolzhikov A.A., Avtina T.V., Zhernakova N.I., Peresypkina A.A. Study of the Analgesic and Anti-Inflammatory Activity of a New Non-Opioid Analgesic Based on a Selective Inhibitor of TRPA1 Ion Channels. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2019; 26(1): 77–87. (In Russ., English abstract). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-1-77-87>

Submitted 20.10.2018

Revised 11.01.2019

Published 25.02.2019

Введение

С проблемой болевого синдрома и его купированием приходится сталкиваться врачам практически всех специальностей. По данным Российской ассоциации по изучению боли распространенность хронических болевых синдромов в России варьируется от 13,8 до 56,7%, составляя в среднем 34,3 случая на 100 человек. Более чем 40% людей, страдающих хронической болью, указывают на то, что боль серьезно снижает их качество жизни [1].

В мае 2012 года в Копенгагене состоялся третий международный симпозиум по социальному влиянию боли, в рамках которого была завершена разработка меморандума о необходимости признания правительствами государств — членов Евросоюза хронической боли как заболевания [2]. На сегодняшний день обезболивание во всем мире рассматривается как одно из фундаментальных прав человека [3, 4].

Однако, несмотря на все современные исследования в области фармакологии и фармакотерапии болевого синдрома, разрабатываемые руководства и практические рекомендации для врачей о принципах адекватного купирования боли, зачастую пациенты оказываются без должной терапии [5].

Несмотря на существующие на сегодняшний день рекомендации по лечению болевого синдрома, указывающие на необходимость патогенетической терапии, большинство практикующих врачей продолжают назначать НПВС даже в случаях отсутствия повреждения тканей или воспаления, хотя оптимальное применение НПВС, опиоидных анальгетиков или комбинации препаратов у пациентов с хронической болью до сих пор остается предметом исследований [6].

НПВС получили широкое распространение для купирования боли на всех этапах оказания медицинской помощи. Особенно популярна данная группа препаратов в лечении заболеваний опорно-двигательной системы и суставов, в основе которых лежит воспаление, однако НПВС широко используются не только в ревматологии, но и других областях медицины (кардиология, неврология, онкология и др.) [7]. Рынок НПВС относится к группе М [Рынок препаратов для лечения заболеваний костно-мышечной системы] и занимает более 50% его объема как в натуральном, так и в стоимостном выражении [8]. Реализация препаратов данной группы осуществляется преимущественно через аптеки (около 90% продаж), а безрецептурная их продажа, делая их легкодоступными, увеличивает опасность развития осложнений и побочных эффектов фармакотерапии.

На первом месте по частоте развития из всех побочных реакций при приеме НПВС стоит гастроэнтеральная патология [9]. Ульцерогенное действие НПВС обусловлено несколькими механизмами. Большинство НПВС по природе своей являются слабыми кислотами, поэтому оказывают непосредственное негативное влияние на слизистую оболочку желудка. Во-вторых, при длительном их применении происходит снижение выработки гастропротекторных простагландинов, что приводит к уменьшению количества защитной слизи на стенке желудка и, как итог, к эрозированию слизистой оболочки желудка [10, 11].

Длительный прием НПВС может привести к повышению артериального давления вследствие угнетения фермента циклооксигеназы в почках и задержке натрия и воды в организме [11–13]. Обычно цифры артериального дав-

ления изменяются невыраженно, особенно на фоне антигипертензивной терапии, хотя в некоторых случаях может потребоваться увеличение дозы последних [14].

На фоне длительного приема НПВС повышается риск таких осложнений, как лейкопения, агранулоцитоз и тромбоцитопения [15]. Особенно опасно развитие агранулоцитоза, летальность в результате которого достигает 10–30% [16, 17].

В некоторых случаях прием НПВС сопровождается развитием «аспириновой» астмы в связи с преобладанием липооксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты и как следствие с увеличением синтеза лейкотриенов и тромбоксана A₂ — мощных бронхоконстрикторов [12].

Редким осложнением при длительном приеме НПВС является лекарственно-обусловленный гепатит. Токсическое влияние данной группы препаратов на печень связано с активацией хemoоксигеназы-1 и работой системы цитохрома P450 [18], а также предположительно с повреждением митохондрий гепатоцитов [19]. Длительный прием НПВС может привести к повышению уровня креатинина и гиперкалиемии, что в некоторых случаях требует постоянного контроля этих показателей крови [20–22].

Таким образом, несмотря на широкое применение группы НПВС в медицинской практике, вопрос их безопасности остается открытым. Поэтому на сегодняшний день является актуальным поиск новых молекул, способных избирательно блокировать «мишени», непосредственно воспринимающие болевые раздражители и медиаторы воспаления в организме. Одной из таких терапевтических мишеней является ионный канал TRPA1 [23]. На сегодняшний день на мировом фармацевтическом рынке нет лекарственных средств из группы селективных ингибиторов TRPA1, хотя в США несколько инновационных молекул успешно перешли в фазу клинических испытаний.

Целью нашего исследования явилось изучение анальгетической и противовоспалительной активности инновационной молекулы под лабораторным шифром ZC02-0012 из группы замещенных пиазинопиримидинонов, являющейся селективным блокатором ионного канала TRPA1.

Материалы и методы исследования

Исследование было выполнено в соответствии с требованиями ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», с соблюдением European Convention

for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 170. Все эксперименты были одобрены Этическим комитетом ФГАОУ ВПО «Белгородского государственного национального исследовательского университета» (НИУ «БелГУ») Министерства образования и науки. Вивисекцию проводили в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 170. Условия содержания животных: стандартная экспериментальная биологически чистая комната, освещение 12ч/12ч светлый/темный цикл, t 22–24 °C.

Исследование анальгетической активности селективного ингибитора ионного канала TRPA1, активной фармацевтической субстанции под шифром ZC02-0012 проводили в двух тестах: горячей пластины и уксуснокислых корчей.

А. Тест горячей пластины

Эксперименты выполнены на белых лабораторных мышах массой 22–28 г. С целью моделирования болевого синдрома животных помещали на разогретую до 55° горячую пластину (Hot-Plate LE7406, Panlab Harvard Apparatus) и фиксировали время в секундах до момента первого облизывания ими лапок. Затем все животные были разделены на группы в зависимости от вводимых веществ и пути введения:

I группа — контрольная, введение ПЭГ-400 внутривенно (n=15);

II группа — внутривенное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 1 мг/кг (n=15);

III группа — внутривенное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 3 мг/кг (n=15);

IV группа — внутривенное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 9 мг/кг (n=15);

V группа — внутривенное введение референсного препарата «Кеторол» в дозе 3,48 мг/кг (n=15);

VI группа — контрольная, введение ПЭГ-400 внутримышечно (n=15);

VII группа — внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 1 мг/кг (n=15);

VIII группа — внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 3 мг/кг (n=15);

IX группа — внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 9 мг/кг (n=15);

X группа — внутримышечное введение референсного препарата «Кеторол» в дозе 3,48 мг/кг (n=15).

Через 30, 60, 90 и 120 минут после введения исследуемых веществ экспериментальных животных повторно помещали на разогретую до 55° пластину и фиксировали время в секундах до момента первого облизывания ими лапок. О наличии анальгетического действия судили по увеличению времени пребывания животного на горячей пластине.

Б. Тест уксуснокислых корчей

Эксперименты выполнены на имбредных крысах массой 200–220 г, которым внутрижелудочно либо внутримышечно вводили исследуемые вещества.

I группа — контрольная, ПЭГ-400 внутримышечно;

II группа — внутрижелудочное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 0,46 мг/кг (n=15);

III группа — внутрижелудочное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 1,38 мг/кг (n=15);

IV группа — внутрижелудочное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 4,15 мг/кг (n=15);

V группа — внутрижелудочное введение референсного препарата «Кеторол» в дозе 1,6 мг/кг (n=15);

VI группа — контрольная, ПЭГ-400 внутримышечно;

VII группа — внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 0,46 мг/кг (n=15);

VIII группа — внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 1,38 мг/кг (n=15);

IX группа — внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 4,15 мг/кг (n=15);

X группа — внутримышечное введение референсного препарата «Кеторол» в дозе 1,6 мг/кг (n=15).

Через 30 минут после внутримышечного введения и через 1 час после внутрижелудочного введения исследуемых веществ вызывали

«корчи» путем внутрибрюшинного введения 0,75% раствора уксусной кислоты из расчета 1 мл на 100 г массы тела животного. Спустя 15 минут от введения раствора уксусной кислоты производили подсчет количества корчей в течение 30 минут. Корчи — характерные движения животных, включающие сокращения брюшных мышц, чередующихся с их расслаблением, вытягивание задних конечностей и прогибание спины [24]. О наличии анальгетического действия судили по уменьшению количества корчей по сравнению с группой контроля, рассчитывая его по формуле:

$$\frac{C_k - C_o}{C_k} \times 100\%,$$

где C_o и C_k — число «корчей» после и до введения препарата соответственно.

Противовоспалительная активность селективного ингибитора ионного канала TRPA1, активной фармацевтической субстанции под шифром ZC02-0012 исследована на модели острого экссудативного воспаления. Эксперименты выполнены на белых лабораторных мышах массой 22–28 г, которым внутрижелудочно либо внутримышечно вводили исследуемые вещества.

I группа — контрольная, введение ПЭГ-400 внутрижелудочно (n=15);

II группа — внутрижелудочное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 1 мг/кг (n=15);

III группа — внутрижелудочное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 3 мг/кг (n=15);

IV группа — внутрижелудочное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 9 мг/кг (n=15);

V группа — внутрижелудочное введение референсного препарата «Диклофенак» в дозе 13,91 мг/кг (n=15);

VI группа — контрольная, введение ПЭГ-400 внутримышечно (n=15);

VII группа — внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 1 мг/кг (n=15);

VIII группа — внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 3 мг/кг (n=15);

IX группа — внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1 в дозе 9 мг/кг (n=15);

Х группа — внутримышечное введение референсного препарата «Диклофенак» в дозе 13,91 мг/кг (n=15).

Экссудативный отек вызывали спустя 45 минут от момента введения исследуемых веществ путем субплантарной инъекции в правую заднюю стопу мышей 0,02 мл 2% водного раствора формальдегида. Противовоспалительный эффект оценивали по степени ингибирования прироста отека стопы на фоне препаратов по сравнению с контролем — группой нелеченых животных. Массу стопы измеряли через 4 часа (на пике отека) после инъекции флогистика на электронных весах с точностью до 1 мг, в качестве контроля использовали левую лапку того же животного, в которую параллельно с введением флогистика инъектировали равный объем изотонического раствора NaCl. Ингибирующий эффект рассчитывали по формуле:

$$\text{Эинг} = ((\Delta\text{Мк} - \Delta\text{Мо}) \times 100\%) / \Delta\text{Мк},$$

где Эинг — ингибирующий эффект, $\Delta\text{Мк}$ и $\Delta\text{Мо}$ — средний прирост массы отечной стопы в контрольной и опытной группах.

Результаты исследования

А. Результаты исследования анальгетической активности селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, в тесте горячей пластины (Hot-Plate LE7406, Panlab Harvard Apparatus)

Установлено, что исследуемое вещество в дозе 1 мг/кг как при внутрижелудочном, так и при внутримышечном введении не обладает анальгетическим действием. При этом в дозах 3 и 9 мг/кг селективный ингибитор ионного канала TRPA1 оказывает анальгетическое действие, превосходящее таковое у препарата сравнения кеторола. При этом и при внутрижелудочном, и при внутримышечном введении селективный антагонист ZC02-0012 сохраняет свое анальгетическое действие на протяжении всего периода исследования, вплоть до 120 минуты, тогда как для кеторола данный эффект нивелируется уже к 90 минуте при внутримышечном введении и к 120 минуте при внутрижелудочном применении. Однако нами не было выявлено значимой разницы по выраженности анальгетического эффекта между дозами 3 и 9 мг/кг селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012 (табл. 1 и 2).

Таблица 1. Динамика показателей теста горячей пластины при внутрижелудочном введении исследуемых веществ ($M \pm m$)

Table 1. Indicator dynamics for the hot plate test with intragastric administration of the studied substances ($M \pm m$)

Вещество	Исходно	30 мин	60 мин	90 мин	120 мин
ПЭГ-400	7,7±0,4	8,0±0,6	8,2±0,4	8,9±0,5	8,8±0,4
ZC02-0012 1 мг/кг	7,6±0,4	9,2±0,4	10,9±0,6	10,5±0,5	9,6±0,5
ZC02-0012 3 мг/кг	7,2±0,5	15,1±0,9**	22,2±1,0**	16,4±0,8**	14,3±0,7**
ZC02-0012 9 мг/кг	7,5±0,5	15,4±0,7**	22,9±1,0**	17,7±1,3**	13,5±1,2**
Кеторол 3,48 мг/кг	7,1±0,4	10,8±0,4*	16,6±0,6*	13,8±0,5*	10,8±0,4

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с ПЭГ-400; ** — $p < 0,05$ в сравнении с кеторолом.

Note: * — $p < 0.05$ in comparison with PEG-400; ** — $p < 0.05$ in comparison with Ketorol.

Таблица 2. Динамика показателей теста горячей пластины при внутримышечном введении исследуемых веществ ($M \pm m$)

Table 2. Indicator dynamics for the hot plate test with intramuscular administration of the studied substances ($M \pm m$)

Вещество	Исходно	30 мин	60 мин	90 мин	120 мин
ПЭГ-400	8,4±0,3	9,1±0,5	9,6±0,5	9,9±0,3	9,8±0,4
ZC02-0012 1 мг/кг	7,3±0,4	10,8±0,9	9,6±0,5	8,5±0,3	8,4±0,5
ZC02-0012 3 мг/кг	7,3±0,5	22,4±1,0**	17,3±0,8**	14,6±0,8**	12,4±0,8**
ZC02-0012 9 мг/кг	7,0±0,5	22,7±1,4**	17,7±1,1**	14,1±0,8**	11,5±0,8**
Кеторол 3,48 мг/кг	7,2±0,5	17,6±0,9*	12,7±0,7*	9,8±0,6	8,3±0,6

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с ПЭГ-400; ** — $p < 0,05$ в сравнении с кеторолом.

Note: * — $p < 0.05$ in comparison with PEG-400; ** — $p < 0.05$ in comparison with Ketorol.

Б. Результаты исследования анальгетической активности селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, в тесте «уксуснокислых корчей»

Как свидетельствуют данные, представленные в табл. 3, предварительное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, в дозе 0,46 мг/кг не имеет анальгетического эффекта как при внутрижелудочном, так и при внутримышечном пути введения. При этом изучаемое вещество ZC02-0012 в дозах 1,38 и 4,15 мг/кг

и препарат сравнения «Кеторол» как при внутрижелудочном, так и при внутримышечном пути введения вызывают четкую анальгезию, проявляющуюся в уменьшении числа корчей по сравнению с группой контроля, однако у селективного антагониста ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012 данный эффект выражен в значимо большей степени, нежели у кеторола. Однако различия в анальгетическом действии между дозами 1,38 и 4,15 мг/кг вещества ZC02-0012 при обоих исследованных путях введения не носили статистически значимого характера.

Таблица 3. Анальгетическая активность селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, и препарата сравнения «Кеторол» по методике уксуснокислых «корчей»

Table 3. Analgesic activity of the ZC02-0012 selective inhibitor of TRPA1 ion channels and Ketorol reference drug in acetic writhing test

Вещество и доза	Абсолютное число корчей, $M \pm m$	Фармакологическая активность, %
Внутрижелудочное введение		
ПЭГ-400	27,9 \pm 1,5	-
ZC02-0012 0,46 мг/кг	28,6 \pm 1,5	-
ZC02-0012 1,38 мг/кг	9,6 \pm 0,8**	65,6
ZC02-0012 4,15 мг/кг	8,7 \pm 0,6**	68,8
Кеторол 1,6 мг/кг	14,8 \pm 1,0*	46,9
Внутримышечное введение		
ПЭГ-400	25,9 \pm 1,4	-
ZC02-0012 0,46 мг/кг	24,1 \pm 1,5	-
ZC02-0012 1,38 мг/кг	7,1 \pm 0,6**	72,6
ZC02-0012 4,15 мг/кг	6,7 \pm 0,6**	74,13
Кеторол 1,6 мг/кг	12,4 \pm 0,7*	52,12

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с ПЭГ-400; ** — $p < 0,05$ в сравнении с кеторолом.

Note: * — $p < 0.05$ in comparison with PEG-400; ** — $p < 0.05$ in comparison with Ketorol.

В. Результаты исследования противовоспалительной активности селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012

При введении флогогена под апоневроз задней лапы мыши у всех экспериментальных животных развивался выраженный отек. Полученные данные представлены в табл. 4 и 5.

Таблица 4. Противовоспалительная активность селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, и препарата сравнения «Диклофенак» при внутрижелудочном введении на модели формалинового отека стопы мышей

Table 4. Anti-inflammatory activity of the ZC02-0012 selective inhibitor of TRPA1 ion channels and Diclofenac (reference drug) under intragastric administration in the model of formalin edema of the mouse paw

Вещества и дозы	Масса интактной лапки, $M \pm m$	Масса отеочной лапки, $M \pm m$	Прирост массы, г $M \pm m$	Прирост массы, % $M \pm m$	Ингибирующий эффект, %
ПЭГ-400	118,8 \pm 3,1	179,3 \pm 6	60,5 \pm 3,8	50,8 \pm 2,8	-
ZC02-0012 1 мг/кг	114,1 \pm 3,6	169,5 \pm 4,0	55,3 \pm 2,6	49,3 \pm 2,0	2,73

Продолжение таблицы 4

ZC02-0012 3 мг/кг	120,3 \pm 1,6	142,3 \pm 2,0*	22,0 \pm 1,6*	18,4 \pm 1,4*	63,78
ZC02-0012 9 мг/кг	116,7 \pm 2,2	135 \pm 2,3*	18,3 \pm 1,0*	15,8 \pm 1,0*	68,78
«Диклофенак» 13,91 мг/кг	122,3 \pm 1,9	141,5 \pm 2,5*	19,1 \pm 1,8*	15,7 \pm 1,5*	69,05

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с ПЭГ-400.**Note:** * — $p < 0.05$ in comparison with PEG-400.

Таблица 5. Противовоспалительная активность селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, и препарата сравнения «Диклофенак» при внутримышечном введении на модели формалинового отека стопы мышей

Table 5. Anti-inflammatory activity of the ZC02-0012 selective inhibitor of TRPA1 ion channels and Diclofenac (reference drug) under intramuscular administration in the model of formalin edema of the mouse paw

Вещества и дозы	Масса интактной лапки, М \pm м	Масса отечной лапки М \pm м	Прирост массы, г М \pm м	Прирост массы, % М \pm м	Ингибирующий эффект, %
ПЭГ-400	115,2 \pm 3,8	173,9 \pm 6,8	58,7 \pm 4,1	50,8 \pm 3,2	-
ZC02-0012 1 мг/кг	114,3 \pm 3,7	169,6 \pm 4,8	57,7 \pm 4,0	49,1 \pm 3,3	3,5
ZC02-0012 3 мг/кг	123,1 \pm 1,9	144,4 \pm 2,6*	21,3 \pm 1,4*	17,3 \pm 1,1*	66
ZC02-0012 9 мг/кг	116,5 \pm 1,3	134,0 \pm 2,0*	17,5 \pm 1,7*	15,0 \pm 1,5*	70,4
«Диклофенак» 13,91 мг/кг	123,2 \pm 2,4	141,9 \pm 2,6*	18,7 \pm 1,3*	15,3 \pm 1,2*	69,85

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с ПЭГ-400.**Note:** * — $p < 0.05$ in comparison with PEG-400.

Из представленных таблиц видно, что однократное внутривенное и внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, в дозе 1 мг/кг не оказывает статистически значимого влияния на экссудативную фазу воспаления, то есть практически не уменьшает выраженность отека задней лапы у мышей на введение 2% водного раствора формалина. В то же время, однократное внутривенное и внутримышечное введение селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, в дозе 3 и 9 мг/кг, а также препарата сравнения «Диклофенак» в дозе 13,91 мг/кг статистически значимо угнетало выраженность отека задней лапы животного. Однако при сравнении эффекта исследуемого вещества под шифром ZC02-0012 и «Диклофенак» при расчете ингибирующего эффекта значимой разницы между его выраженностью выявлено не было, так же как не было выявлено разницы по выраженности противовоспалительной активности между дозами 3 и 9 мг/кг селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012. Таким образом, противовоспалительная активность селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, сопоставима с наиболее активным по силе

противовоспалительного действия препаратом из группы НПВС — «Диклофенак».

Выводы

Селективный ингибитор ионного канала TRPA1, вещество под шифром ZC02-0012, обладает анальгетическим действием, превосходящим таковое у препарата сравнения «Кеторол», имеющим наибольшую анальгетическую активность в группе НПВС, сопоставимую, по некоторым данным, с опиоидными анальгетиками. Анальгетическое действие проявлялось в увеличении латентного периода пребывания белых лабораторных мышей на разогретой до 55° пластине в тесте «горячей пластины» и уменьшением количества «корчей» в ответ на внутривенное введение слабого раствора уксусной кислоты лабораторным крысам линии Wistar.

Селективный ингибитор ионного канала TRPA1, вещество под шифром ZC02-0012, обладает противовоспалительным действием, сопоставимым по выраженности с диклофенаком натрия, препаратом с наибольшей противовоспалительной активностью из группы нестероидных противовоспалительных средств (НПВС). Противовоспалительное действие проявлялось в угнетении отека задней лапки мыши в ответ на подапоневротическое введение

ние 2% раствора формалина после введения исследуемых веществ.

Анальгетическая и противовоспалительная активность селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, отсутствовала в дозе 1 мг/кг и была мак-

симально выражена в дозе 3 мг/кг. При этом достоверной разницы по выраженности эффектов между дозой 3 и 9 мг/кг выявлено не было, что свидетельствует об отсутствии у селективного ингибитора ионного канала TRPA1, вещества под шифром ZC02-0012, явно выраженного дозозависимого действия.

Список литературы

1. Данилов А.Б. *Новые подходы в лечении пациентов с хронической болью*. URL: <http://www.lvrach.ru/2009/04/7634652/>
2. The Societal Impact of Pain. *European positioning statement: chronic pain fundamental for European health*. International multi-stakeholder platform acknowledges chronic pain as disease in its own-European policy-makers challenged to respond. 2012. [Accessed on June 27, 2012]. Accessed from <http://www.sip-platform.eu/sip-2012.html>.
3. Gwyther L., Brennan F., Harding R. Advancing palliative care as a human right. *J. Pain Symptom Manage.* 2009; 38(5): 767–774. DOI: 10.1016/j.jpainsymman.2009.03.003
4. Hall J.K., Boswell M.V. Ethics, law, and pain management as a patient right. *Pain Physician.* 2009; 12(3): 499–506.
5. Varrassi G., Müller-Schwefe G., Pergolizzi J. et al. Pharmacological treatment of chronic pain — the need for CHANGE. *Curr. Med. Res. Opin.* 2010; 26(5): 1231–1245. DOI: 10.1185/03007991003689175
6. Antman E.M., Bennett J.S., Daugherty A. et al. Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update for clinicians: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2007; 115(12): 1634–1642. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.181424
7. Abramova S.N., Lazareva G.A. Pharmacotherapy exacerbations of chronic inflammatory conditions of female genital sphere using to Gepon and Longidaza. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology.* 2016; 2(4): 55–67. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-4-55-67
8. Жураховская Д.В., Лоскутова Е.Е., Виноградова И.А. Маркетинговый анализ фармацевтического рынка нестероидных противовоспалительных препаратов на региональном уровне. Современные проблемы науки и образования. 2014; (2). URL: <http://www.science-education.ru/116-12853>
9. Hawkey C.J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Gastroenterology.* 2000; 119(2): 521–535.
10. El-Setouhy D.A., Gamiel A.A., Badawi A.A. et al. Comparative study on the in vitro performance of blister molded and conventional lornoxicam immediate release liquitablets: accelerated stability study and anti-inflammatory and ulcerogenic effects. *Pharm. Dev. Technol.* 2017; 22(2): 256–265. DOI: 10.1080/10837450.2016.1221423
11. Halici Z., Polat B., Cadirci E. et al. Inhibiting renin angiotensin system in rate limiting step by aliskiren as a new approach for preventing indomethacin induced gastric ulcers. *Chem. Biol. Interact.* 2016; 258: 266–275. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.09.011
12. Михайлов И.Б. *Настольная книга врача по клинической фармакологии. Руководство для врачей*. СПб.: Фолиант; 2001: 736.
13. Bjorkman D.J. Current status of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) use in the United States: risk factors and frequency of complications. *Am. J. Med.* 1999; 107(6A): 3S–8S.
14. Bahmani M., Sarrafchi A., Shirzad H. et al. Cardiovascular toxicity of cyclooxygenase inhibitors and promising natural substitutes. *Curr. Pharm. Des.* 2017; 23(6): 952–960. DOI: 10.2174/1381612822666161006144942
15. Strom B.L., Carson J.L., Schinnar R. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and neutropenia. *Arch. Int. Med.* 1993; 153(18): 2119–2124.
16. Oude Munnik T.H., Annink-Smoors M., Hom H.W., Sportel E.T. Agranulocytosis and septic shock after metamizole use. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 2016; 160: A9464.
17. Pedrazas López D., de Pablo Márquez B, García Font D., Sánchez García E. Methamizole-induced agranulocytosis. *Med Clin (Barc).* 2016; 146(7): e41. DOI: 10.1016/j.medcli.2015.07.008
18. Bort R., Ponsoda X., Jover R. et al. Diclofenac toxicity to hepatocytes: a role for drug metabolism in cell toxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999; 288(1): 65–72.
19. Teoh N.C., Farrell G.C. Hepatotoxicity associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clin. Liver Dis.* 2003; 7(2): 401–413.
20. Pathan E., Gaitonde S., Rajadhyaksha S. et al. A longitudinal study of serum creatinine levels in patients of rheumatoid arthritis on long term NSAID therapy. *J. Ass. Phys. Ind.* 2003; 51: 1045–1049.
21. Van Staa T.P., Travis S., Leufkens H.G., Logan R.F. 5-aminosalicylic acids and the risk of renal disease: a large British epidemiologic study. *Gastroenterology.* 2004; 126(7): 1733–1739.

22. Zhang X., Donnan P.T., Bell S., Guthrie B. Non-steroidal anti-inflammatory drug induced acute kidney injury in the community dwelling general population and people with chronic kidney disease: systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrology*. 2017; 18(1): 256. DOI: 10.1186/s12882-017-0673-8
23. Beskhnelnitsyna E.A., Korokin M.V., Avtina T.V. et al. Ion channel TRPA1 is a promising therapeutic target for treatment of pain. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2015; 1(1): 20–22. DOI: 10.18413/2500-235X-2015-1-4-21-24
24. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ: учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей*. Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития, Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Под общ. ред. Р.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. М.: Медицина; 2005: 832.

References

1. Danilov A.B. *Novye podkhody v lechenii patsientov s khronicheskoi bol'yu*. URL: <http://www.lvrach.ru/2009/04/7634652/> (In Russ.).
2. The Societal Impact of Pain. *European positioning statement: chronic pain fundamental for European health*. International multi-stakeholder platform acknowledges chronic pain as disease in its own-European policy-makers challenged to respond. 2012. [Accessed on June 27, 2012]. Accessed from <http://www.sip-platform.eu/sip-2012.html>.
3. Gwyther L., Brennan F., Harding R. Advancing palliative care as a human right. *J. Pain Symptom Manage*. 2009; 38(5): 767–774. DOI: 10.1016/j.jpainsymman.2009.03.003
4. Hall J.K., Boswell M.V. Ethics, law, and pain management as a patient right. *Pain Physician*. 2009; 12(3): 499–506.
5. Varrassi G., Müller-Schwefe G, Pergolizzi J. et al. Pharmacological treatment of chronic pain — the need for CHANGE. *Curr. Med. Res. Opin*. 2010; 26(5): 1231–1245. DOI: 10.1185/03007991003689175
6. Antman E.M., Bennett J.S., Daugherty A. et al. Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update for clinicians: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2007; 115(12): 1634–1642. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.181424
7. Abramova S.N., Lazareva G.A. Pharmacotherapy exacerbations of chronic inflammatory conditions of female genital sphere using to Gepon and Longidaza. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2016; 2(4): 55–67. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-4-55-67
8. Zhurakhovskaya D.V., Loskutova E.E., Vinogradova I.A. Marketingovy analiz farmatsevticheskogo rynka nesteroidnykh protivovospalitel'nykh preparatov na regional'nom urovne. *Sovremennye Problemy Nauki i Obrazovaniya*. 2014; (2). URL: <http://www.science-education.ru/116-12853> (In Russ.).
9. Hawkey C.J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Gastroenterology*. 2000; 119(2): 521–535.
10. El-Setouhy D.A., Gamiel A.A., Badawi A.A. et al. Comparative study on the in vitro performance of blister molded and conventional lornoxicam immediate release liquitablets: accelerated stability study and anti-inflammatory and ulcerogenic effects. *Pharm. Dev. Technol*. 2017; 22(2): 256–265. DOI: 10.1080/10837450.2016.1221423
11. Halici Z., Polat B., Cadirci E. et al. Inhibiting renin-angiotensin system in rate limiting step by aliskiren as a new approach for preventing indomethacin induced gastric ulcers. *Chem. Biol. Interact*. 2016; 258: 266–275. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.09.011
12. Mikhailov I.B. *Nastol'naya kniga vracha po klinicheskoi farmakologii. Rukovodstvo dlya vrachei*. Saint Petersburg: Foliant; 2001: 736 (In Russ.).
13. Bjorkman D.J. Current status of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) use in the United States: risk factors and frequency of complications. *Am. J. Med*. 1999; 107(6A): 3S–8S.
14. Bahmani M., Sarrafchi A., Shirzad H. et al. Cardiovascular toxicity of cyclooxygenase inhibitors and promising natural substitutes. *Curr. Pharm. Des*. 2017; 23(6): 952–960. DOI: 10.2174/1381612822666161006144942
15. Strom B.L., Carson J.L., Schinnar R. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and neutropenia. *Arch. Int. Med*. 1993; 153(18): 2119–2124.
16. Oude Munnik T.H., Annink-Smoors M., Hom H.W., Sportel E.T. Agranulocytosis and septic shock after metamizole use. *Ned. Tijdschr. Geneesk*. 2016; 160: A9464.
17. Pedrazas López D., de Pablo Márquez B, García Font D., Sánchez García E. Methamizole-induced agranulocytosis. *Med Clin (Barc)*. 2016; 146(7): e41. DOI: 10.1016/j.medcli.2015.07.008
18. Bort R., Ponsoda X., Jover R. et al. Diclofenac toxicity to hepatocytes: a role for drug metabolism in cell toxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1999; 288(1): 65–72.
19. Teoh N.C., Farrell G.C. Hepatotoxicity associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clin. Liver Dis*. 2003; 7(2): 401–413.
20. Pathan E., Gaitonde S., Rajadhyaksha S. et al. A longitudinal study of serum creatinine levels in patients of rheumatoid arthritis on long term NSAID therapy. *J. Ass. Phys. Ind*. 2003; 51: 1045–1049.

21. Van Staa T.P., Travis S., Leufkens H.G., Logan R.F. 5-aminosalicylic acids and the risk of renal disease: a large British epidemiologic study. *Gastroenterology*. 2004; 126(7): 1733–1739.
22. Zhang X., Donnan P.T., Bell S., Guthrie B. Non-steroidal anti-inflammatory drug induced acute kidney injury in the community dwelling general population and people with chronic kidney disease: systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrology*. 2017; 18(1): 256. DOI: 10.1186/s12882-017-0673-8
23. Beskhmel'nitsyna E.A., Korokin M.V., Avtina T.V. et al. Ion channel TRPA1 is a promising therapeutic target for treatment of pain. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2015; 1(1): 20–22. DOI: 10.18413/2500-235X-2015-1-4-21-24
24. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv: uchebnoe posobie dlya sistemy poslevuzovskogo professional'nogo obrazovaniya vrachei*. Federal'naya sluzhba po nadzoru v sfere zdravookhraneniya i sotsial'nogo razvitiya, Nauchnyi tsentr ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. R.U. Khabriev, ed. 2nd ed., revised and enlarged. Moscow: Meditsina; 2005: 832.

Контактная информация / Corresponding author

Бесхмельница Евгения Александровна;
тел.: +7 (960) 620-11-88; пер. 5-й Сургутский, д. 21а, г. Белгород, 308036, Россия.

e-mail: evgeny_b89@mail.ru

Evgeniya A. Beskhmel'nitsyna; +7 (960) 620-11-88; 5th Surgutskiy ave., 21a, Belgorod, 308036, Russia.

e-mail: evgeny_b89@mail.ru